

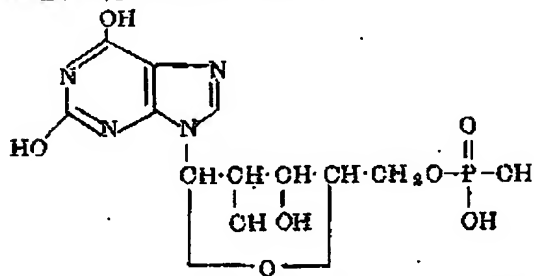
| Japanese Patent Office | | |
|---|-------------|--|
| Classification: 36(2)D 531.42 | | Publication No.: 42-3838 |
| | Publication | Publication date: February 17, 1967 |
| (Total pages 3) | | |
| <p>Title: Method for preparing 5'-xanthylic acid by microorganism</p> <p>Application No.: 39-67248</p> <p>Application date: December 1, 1964</p> <p>Applicant: Asahi Chemical Industry Co. Ltd.</p> <p>Abstract:</p> <p>The present invention relates to method for preparing 5'-xanthylic acid by microorganism. According to method of the invention, <i>Pseudomonas aeruginosa</i> which needs guanine for its growth and uses hydrocarbon as energy source, is cultured aerobically in medium comprising hydrocarbon, nitrogen, mineral, surface active agent and inorganic material including growth factor of fermentation bacterium at pH 5 to 9, and then 5'-xanthylic acid is obtained from the culture.</p> | | |

微生物による5'-キサンテル酸の製造法

特 願 昭 39-67248
出 願 日 昭 39.12.1
発 明 者 大沢岳義
延岡市旭町2の2の1
同 瀬戸進
延岡市緑ヶ丘607の2
同 渡辺史朗
延岡市緑ヶ丘5003の14
同 石田貢夫
延岡市緑ヶ丘5003の34
出 願 人 旭化成工業株式会社
大阪市北区堂島浜通1の25の1
代 表 者 宮崎輝
代 理 人 弁理士 久高将信

発明の詳細な説明

本発明は、微生物による5'-キサンテル酸の製造法に関するものであつて、その目的とするところは呈味性成分として知られる6-オキシプリン-5'-リボヌクレオチドの1種である下記構造式をもつたキサンテル酸を、炭化水素を主要原料とした直接発酵法により低価かつ工業的に有利に製造する方法を提供するにある。



5'-キサンテル酸の製造方法については現在まだ研究が進んでおらず、わずかにリボ核酸を5'-ホスホジエステラーゼにより加水分解してえられる5'-グアニル酸を化学的または生化学的に脱アミノ化する方法が考えられるにすぎない。本発明者らはこれにたいして、微生物を用いて直接発酵法により培養液中に5'-キサンテル酸を効率よく生成蓄積させ、これを単離採取する新規な方法を発明した。

本発明方法の特徴の第1は発酵法により直接培養液中に5'-キサンテル酸を生成蓄積せしめること、第2は発酵菌としてシュードモナス・エルギノサの栄養要求株を使用すること、第3は主原料として炭化水素を利用することである。

本発明に使用する微生物は少くともグアニンを要求する菌株であればよく、これらは一般に炭化水素の窒化性を有するシュードモナス・エルギノサを親株として、紫外線、X線、ガンマ線などの照射、ナイトロジエンマスタードならびに亜硝酸接触などの変異処理によつて生ずる栄養要求株から選ばれるが、なおそのほか、自然界から直接分離されたものでも上記栄養要求性を示し5'-キサンテル酸生産性がある場合が認められる。したかつて本発明における使用菌は、上記シュードモナス・エルギノサの親株の変異処理によつてえられる人工変異株ならびに自然界から直接分離された栄養要求株の両者を含み、これらは少くともグアニンを要求する栄養要求株であれば、その要求する栄養物質の適正な存在下で好氣的に培養することにより5'-キサンテル酸を生成蓄積させることができる。

上記5'-キサンテル酸生産性シュードモナス・エルギノサは、その一般菌学的性状については同種の非生産菌株とほとんど差異がみられないが、ただもつとも重要な特徴につきの点にある。

1. 非生産菌株に比べて脱リン酸酵素活性が低いこと。
2. 5'-キサンテル酸などの培養液中への蓄積により生育が支配されないこと。
3. 最少栄養培地にまったく生育しないこと（少くともグアニンが存在しなければ生育はみられない）。

つぎに本発明方法で用いられる栄養培地は5'-キサンテル酸を収量よく生成蓄積させるに適するよう改良したものであつて、炭化水素、窒素源、無機塩および菌の生育に必要な栄養因子を含有する有機栄養物質などを適量配合し、さらにこれに界面活性剤を添加してなるものである。炭化水素としては灯油、軽油、重油など石油分留物、原油、ナフサ、天然ガス、パラフィン、オレフィン、アルカンなどが工業的に有利であるが、そのほかの炭化水素も利用できる。必要によつては糖質す

なわちグルコース、シユクロース、蔗糖蜜類やその他グルコン酸などを混用することが効果的な場合もある。窒素源としては無機アンモニウム塩、尿素、アンモニアなどが使用され、これらは逐時pH調節を兼ねてフィードすることができる。無機塩としてはリン酸、マンガ、鉄、亜鉛、マグネシウムなどを含有するものを供給すればよく、また生育に必要とする因子としては核酸塩基、ビタミン、アミノ酸などであり、とくに前記のようにグアニン系化合物すなわちグアニン、グアノシン、グアニル酸、リボ核酸などの添加は必須である。これらは単体（純物質）として、またはこれらを含有する天然物、たとえば乾燥酵母、酵母エキス、肉エキス、カゼイン加水分解物、トウモロコシ加水分解物などを使用することができる。それぞれの添加量は菌株によつてこととなるが、たとえば酵母エキスの場合は0.01~0.5%が適当で、またグアニン系化合物を単体で与える場合はグアニン塩基としては5mg/ℓ以上になるように調整する。これらが過少または過剰量の場合は目的物の収量が若干低下するから、その至適量は供試菌株の特性に応じてあらかじめ定めておくようにする。

本発明における界面活性剤の増地への添加は重要な意味をもつのであつて、その作用機作は主として炭化水素と他の水溶性増地成分ならびに発酵菌体とをよく混合接触させることにある。具体的な該薬剤の種類としては、ポリオキシエチレン・ソルビタン脂肪酸エステル、ポリオキシエチレン脂肪酸エステルなどがあげられ、とくにポリオキシエチレン・モノオレート、ポリオキシエチレン・モノステアレート、ポリオキシエチレン・ソルビタンモノラウレートを構成成分とする非イオン界面活性剤が効果的である。それらの添加量は上述の作用を果すに必要な程度でよく、過剰量の存在はさけるものとする。

上記増地における菌培養中のpHも重要で、これは菌株によつて多少こととなるが5.0~9.0の範囲であればよい。培養中、液pHが5.0以下になる場合は炭酸カルシウム、水酸化ナトリウムあるいはアンモニウムなど適当な塩基性中和剤でpHコントロールを行う。培養は好氣的条件たとえば通気攪拌、振盪培養などの方式で実施する。培養温度は25~35℃で、培養時間48~120時間で、5'-キサンチル酸の生成量が最高に達する。培養終了液から5'-キサンチル酸の単離は、発酵菌体を分離した濾液を通常の精製法たとえば

アニオン交換樹脂によるカラムクロマト分画により比較的精製された5'-キサンチル酸溶液をえ、これによりギ酸などの混在物を除去したのち凍結乾燥または有機溶媒処理により粗5'-キサンチル酸を晶出単離させる。

以下に本発明の実施例を示すが、これらは単なる例示であつて本発明をなんら制限するものではない。

実施例 1

シユードモナス・エルギノーサNU-120株（グアニン要求性）を、灯油10%、尿素0.3%、硫酸0.3%、リン酸0.2%、硫酸マグネシウム0.1%、塩化カリ0.1%、硫酸第1鉄0.1%、酵母エキス1.0%、炭酸カルシウム0.4%、pH7の組成の増地に接種し、30℃、24時間培養して種培養液とする。主発酵増地として、灯油2.5%、尿素0.5%、硫酸0.15%、リン酸1カリ0.15%、リン酸2ナトリウム0.3%、塩化カリ0.1%、硫酸マグネシウム0.05%、硫酸第1鉄0.05%、ポリオキシエチレン・ソルビタンモノラウレート（アトラスパウダー社製、商品名ツウィーン20）0.05%、炭酸カルシウム5%、肉エキス0.1%の組成の溶液2.5ℓを5ℓ容ジャーファーマンターに入れて、115℃、15分間加熱殺菌しpHを7に調整する。この主発酵増地に前記種培養液を5%の割合で接種して温度30℃、通気量2.5ℓ/分、攪拌数200rpmの条件で培養した。培養72時間後の5'-キサンチル酸の生成量は0.289g/dlであつた。この培養終了液1ℓから菌体を除去し、イオン交換樹脂ダウエックス1-X-2（硫酸型）で処理して5'-キサンチル酸含有液区分を分離し、この分離液を凍結乾燥して5'-キサンチル酸の粗結晶1.47gをえた。

実施例 2

シユードモナス・エルギノーサASB-2120菌に紫外線を照射してえた2120-J-14菌株（グアニン要求性）を前例と同様の操作方法で、ただし増地の炭素源として灯油の代りにn-ヘキサンを用いて培養した。培養液1ℓから5'-キサンチル酸の粗結晶1.71gをえた。

特許請求の範囲

1 少くともグアニンをその生育に要求し、かつ炭化水素を酸化する性質を有するシユードモナス・エルギノーサを、炭化水素、窒素源、無機塩、界面活性剤および発酵菌の生育に必要な栄養因子を含む有機栄養源よりなる栄養増地に接種して、pH5~9に保持して好氣的に培養をおこない、培養

液中に 5' - キサンチル酸を生成蓄積せしめ、こゝに 5' - キサンチル酸の製造方法。
れを単離取得することを特徴とする微生物による